

醇提三七总皂苷副产物中三七多糖的提取及含量测定

赵嵩月¹ 陈彤^{1*} 张要武² 甘献文² 吴廷丽² 肖娜² 杨如萍¹ 郭燕²

(1. 昆明医学院药学院, 云南 昆明 650500; 2. 云南云科药业有限责任公司, 云南 昆明 650033)

摘要: 目的 建立醇提三七总皂苷副产物三七多糖的提取及含量测定方法。方法 分别收集生产上的三七废渣、大孔树脂水洗废液, 浓缩, 采用水提醇沉的提取工艺, 提取三七多糖。用硫酸-蒽酮显色法测定多糖含量。结果 三七废渣中提取物的收率为 1.71%, 多糖含量为 56.70%; 废液中提取物的收率为 0.45%, 含量为 21.08%。测定三七多糖含量时, 对照品在 0.04~0.2 mg·mL⁻¹ 的线性关系良好 ($r=0.9993$), 平均回收率为 99.00% $RSD=3.18\%$ ($n=9$)。结论 从醇提皂苷的废渣、废液中提取多糖有应用价值; 硫酸-蒽酮显色法测定三七多糖的含量, 结果准确, 操作简便。

关键词: 三七; 三七总皂苷; 三七多糖; 硫酸-蒽酮法; 综合利用

中图分类号: R284

文献标志码: A

文章编号: 1006-0103(2011)05-0481-03

Extraction and determination of polysaccharide in *Panax notoginseng*

ZHAO Song-yue¹, CHEN Tong^{1*}, ZHANG Yao-wu², GAN Xian-wen², WU Ting-li², XIAO Na², YANG Ru-ping¹, GUO Yan²

(1. Pharmaceutical Department of Kunming Medical University, Kunming, Yunnan 650500 P. R. China; 2. Yunnan Yunke Pharmaceuticals Co. Ltd., Kunming, Yunnan 650033 P. R. China)

Abstract: **OBJECTIVE** To establish a method for the extraction and determination of the polysaccharide from *Panax notoginseng*. **METHODS** The waste residue after extraction of the total saponins from *Panax notoginseng* was extracted with water-decoction alcohol-precipitation method. The waste liquor was condensed and extracted with alcohol-precipitation method, and Anthrone test was employed to determine the content of *Panax notoginseng* polysaccharide. **RESULTS** The linearity of glucose reference substance was good in the range of 0.04~0.2 mg·mL⁻¹ ($r=0.9993$), and the average recovery was 99.00% with RSD of 3.18% ($n=9$). The yield of *Panax notoginseng* polysaccharide in waste residue was 1.71% (purity 56.70%) and in waste liquor was 0.45% (purity 21.08%). **CONCLUSION** The extraction technology from the waste residue and liquor after extraction of the total saponins of *Panax notoginseng* is valuable. Anthrone test is accurate, rapid and convenient and can be used for the determination of *Panax notoginseng* polysaccharide.

Key words: *Panax notoginseng*; Total saponins of *Panax notoginseng*; *Panax notoginseng* polysaccharide; Anthrone test; Comprehensive utilization

CLC number: R284

Document code: A

Article ID: 1006-0103(2011)05-0481-03

三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 为五加科人参属多年生草本植物, 又名参三七、田七等, 具止血补血、活血化淤、消肿定痛之功效, 是传统的名贵中药材。三七的化学成分主要为一系列达玛烷型三萜皂苷类化合物(包括人参皂苷和三七皂苷), 还含有多糖类、三七素、挥发性成分、黄酮类、甾醇类等化合物。三七多糖具有增强免疫功能的作用^[1-3], 但含量甚微, 在提取三七总皂苷时, 被当作杂质弃去。生产厂家多采用 70% 乙醇提取, 结合大孔树脂吸附等工艺提取纯化三七总皂苷。多糖类成分大部分仍在废渣中, 被 70% 乙醇提取的部分在大孔树脂吸附皂苷的过程中, 被水洗脱, 当废液冲走。为了综合利用三七资源, 现从皂苷生产中废渣和废

液中提取三七多糖, 并进行含量测定。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

UV-2450 紫外可见分光光度计(日本岛津)。D-无水葡萄糖(中国药品生物制品检定所, 供含量测定用); 乙醇、硫酸、蒽酮均为分析纯。

1.2 方法与结果

1.2.1 废渣和废液中三七多糖的提取 将提取三七总皂苷后的废渣, 用水提取两次, 合并提取液, 浓缩, 加入乙醇, 搅拌均匀, 静置过夜, 过滤, 收集沉淀, 用乙醇洗涤, 取出沉淀, 于 80℃ 减压干燥, 粉碎得灰黄色的粉末。用乙醇提取三七中的总皂苷, 将提取

基金项目: “十一五”国家科技支撑计划项目(课题任务书编号: 2006BA106A14-11); 云南省重点产业创新工程(项目编号: 2008IF022)

作者简介: 赵嵩月(1987—), 女, 云南昆明, 正攻读药剂学专业的硕士学位。Email: zhaosongyue1987@163.com

* 通信作者(Correspondent author), Email: chentongdoc@163.com

液中的乙醇回收后,用水稀释提取液,上大孔树脂柱,三七总皂苷被大孔树脂吸附,用水洗脱,收集洗脱液,浓缩,加入乙醇,搅拌均匀,静置过夜,过滤收集沉淀,沉淀用 93% 乙醇清洗,于 80 ℃ 减压干燥,粉碎得灰黄色粉末。

1.2.2 蒽酮-硫酸试剂与对照液的配制^[4-5] 精密称取 0.1 g 蒽酮,加入 100 mL 80% 的硫酸溶液,搅拌溶解,摇匀,即得蒽酮硫酸试剂,临用新配。取 105 ℃ 干燥至恒重的 D-无水葡萄糖约 10 mg,精密称定,置 50 mL 量瓶中,加水溶解定容,即得对照品溶液。

1.2.3 线性关系的考察 分别精密吸取 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 对照品溶液于 10 mL 试管中,加水至 2.0 mL,精密加入 6 mL “1.2.1”项下硫酸蒽酮溶液,摇匀,置沸水浴中加热 15 min。取出后立即放入冰水浴中冷却 15 min,取出。在 400~800 nm 绘制吸收曲线,确定最大吸收波长为 625 nm,测定 A_{625} 。以对照品溶液中葡萄糖的浓度为横坐标,吸光度为纵坐标,绘制标准曲线。回归方程为: $Y = 0.0309X + 0.0157$ ($r = 0.9993$)。

1.2.4 回收率试验 分别取高、中、低重量样品约 25、14、6 mg,各精密称定 3 份,置 250 mL 量瓶中,分别加入 105 ℃ 干燥至恒重的 D-无水葡萄糖约 12 mg,精密称定,加入 50 mL 水,于 50 ℃ 温水浴中溶解,放置至室温,加水至刻度,过滤,精密吸取续滤液 1 mL,加水至 2.0 mL,照“1.2.3”项自“精密加入硫酸蒽酮溶液 6 mL”起同法操作,在 400~800 nm 绘制吸收曲线,确定最大吸收波长为 625 nm,依法测定吸光度,计算回收率(表 1)。

表 1 回收率的试验结果(mg $n=9$)

Table 1 The results of the recovery rate(mg $n=9$)

Original	Added	Detected	Recovery/%	$\bar{X}/\%$	RSD/%
25.502	12.07	36.682	92.63	99.00	3.18
25.507	12.10	37.432	98.55		
25.623	12.10	37.594	98.94		
14.452	12.31	26.948	101.59		
14.683	12.15	26.764	99.85		
14.510	12.03	26.036	95.81		
6.046	12.30	18.730	103.13		
5.873	12.14	17.922	99.58		
6.374	12.46	18.954	100.96		

1.2.5 重复性试验 取样品约 50 mg,精密称定,共 6 份,分别置 250 mL 量瓶中,加水适量,在 50 ℃ 温水浴中溶解,放置至室温,加水定容,过滤,精密吸取续滤液 1 mL 于试管中,加水至 2.0 mL,照“1.2.3”项自“精密加入硫酸蒽酮溶液 6 mL”起同法操作,依法测定吸光度,计算样品的平均含量为 56.70%, $RSD = 1.71\%$ ($n = 6$)。

1.2.6 稳定性试验 取约 50 mg 粗多糖,精密称定,置 250 mL 量瓶中,加水适量,在 50 ℃ 温水浴中溶解,放置至室温,加水定容,过滤,精密吸取续滤液 1 mL,加水至 2.0 mL,照“1.2.3”项自“精密加入硫酸蒽酮溶液 6 mL”起同法操作,分别于 0、5、10、15、20、25、30、40 min 测定吸光度,计算得 $RSD = 1.70\%$ ($n = 8$)。表明样品在 40 min 内稳定。

1.2.7 样品的含量测定 取约 50 mg 样品多糖,精密称定,置 250 mL 量瓶中,加水适量,在 50 ℃ 温水浴中溶解,放置至室温,加水定容,过滤,精密吸取续滤液 1 mL 于试管中,加水至 2.0 mL,照“1.2.3”项自“精密加入硫酸蒽酮溶液 6 mL”起同法操作,在 400~800 nm 处绘制吸收曲线,在 625 nm 处有最大吸收,测定 A_{625} 。两批废渣中提取的多糖含量分别为: 56.70%, $RSD = 0.9\%$ ($n = 3$); 61.62%, $RSD = 1.46\%$ ($n = 3$)。废液中提取的多糖测定了一批,平均含量为 21.08%, $RSD = 1.5\%$ ($n = 3$)。经生产验证,从废渣中提取三七多糖得率为 1.71% (占三七干燥药材的百分比),含量为 56.70%;从废液中提取三七多糖的得率为 0.45%,含量为 21.08%。

2 讨论

多糖类药物的含量测定采用 DNS 法可排除还原糖的干扰^[6],但用 DNS 法测定三七多糖的含量,多次测定回收率均过高,样品溶液的吸收曲线不平滑,3 次测定回收率的平均值为 125.84%、120.14%、118.74%, RSD 分别为 4.71%、5.58%、3.60% ($n = 6$)。后采用逐个显色逐个测定的方法测定回收率,结果见表 2。

表 2 DNS 法测定多糖含量的回收率(mg $n=6$)

Table 2 The results of recovery rate of DNS method(mg $n=6$)

Original	Added	Detected	Recovery/%	$\bar{X}/\%$	RSD/%
7.70	7.33	15.41	105.1	100.59	6.72
7.26	7.62	14.28	91.6		
7.50	7.41	14.63	96.22		
7.21	7.29	14.32	97.67		
7.31	7.00	14.62	104.6		
7.37	7.37	15.29	108.4		

从文中数据推测可知: 100 kg 三七提取后的废渣和废液中可得 1.06 kg 纯三七多糖。用硫酸-蒽酮法测定三七多糖含量,结果准确、重复性好,且操作简便。采用 DNS 法测定回收率的结果过高,通过逐个显色的方法可得到接近 100% 的回收率,但该操作违背了实验的平行操作原则,出现该现象的原因推测为 DNS 法显色稳定性差,不适用于三七多糖的含量测定。

参考文献:

[1] 陈新霞,顾呈华,杨明晶,等. 三七多糖对小鼠免疫功能调节的研究[J]. 江苏预防医学 2007,18(3):10-12.
[2] 张朝贵,黄青青,蔡瑛,等. 三七多糖对创伤大鼠 CD₄⁺/CD₈⁺ 和白细胞介素-2 水平的影响[J]. 中国创伤杂志, 2005,21(9):711-712.
[3] 蔡瑛,黄青青,张朝贵. 肠内营养加三七多糖对创伤大鼠

CD₄⁺/CD₈⁺ 和白细胞介素-2 水平的影响[J]. 中国危重病急救医学 2006,18(10):626-627.
[4] 中华人民共和国国家药典委员会. 中国药典[S]. 一部. 北京:中国医药工业出版社 2010:175.
[5] 许玲,李晔,黄晋之,等. 蒽酮-硫酸法测定灵芝破壁孢子粉中多糖含量的研究[J]. 海峡药学 2009,21(7):69-71.
[6] 王扣,李莲芳,段霖. 水提三七叶苷副产物多糖的分离及含量测定[J]. 云南中医中药杂志 2006,27(6):38-40.

收稿日期:2011-01-01

川白芷药材中有机磷类农药残留量的测定

蒲道俊¹, 喻强², 李铁钢³, 瞿显友², 张宝喜³, 罗维早^{2*}

(1. 西南药业有限公司, 重庆 495216; 2. 重庆市中药研究院, 重庆 400065; 3. 成都中医药大学, 四川 成都 611730)

摘要: 目的 制定川白芷药材中有机磷类农药最大残留的限量标准(MRLs)。方法 采用乙酸乙酯冰浴超声提取, SPE 活性炭固相萃取柱净化除杂质, GC-NPD 法检测药材中有机磷类农药的残留量。结果 建议将川白芷药材中有机磷类农药的最大残留限量规定为: 敌敌畏 0.2 μg·g⁻¹、乙酰甲胺磷 0.5 μg·g⁻¹、乐果 0.2 μg·g⁻¹、马拉硫磷 0.5 μg·g⁻¹、杀扑磷 2.0 μg·g⁻¹、二嗪农 0.2 μg·g⁻¹、乙硫磷 0.5 μg·g⁻¹、氧化乐果 0.05 μg·g⁻¹、甲胺磷、甲基对硫磷、久效磷、对硫磷不得检出。结论 有机磷农药残留的检测可为生产绿色中药和保障用药安全提供科学依据。

关键词: 川白芷药材; 有机磷类农药; 气相色谱法; 最大残留限量

中图分类号: R917

文献标志码: A

文章编号: 1006-0103(2011)05-0483-04

Analysis of organophosphorus pesticides residues in *Angelica dahurica*

PU Dao-jun¹, YU Qiang², LI Tie-gang³, QU Xian-you², ZHANG Bao-xi³, LUO Wei-zao^{2*}

(1. Southwest Pharmaceutical Co., Ltd, Chongqing, 495216 P. R. China; 2. Chongqing Academy of Chinese Materia Medica, Chongqing 400065 P. R. China; 3. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu, Sichuan, 611730 P. R. China)

Abstract: **OBJECTIVE** To establish the MRLs of organophosphorus pesticides residues (OPPs) in *Angelica dahurica*. **METHODS**

The sample was extracted by ice sonication with ethylacetate and purified with SPE, followed by detection using GC-NPD.

RESULTS The maximum residue limits of Methamidophos, Dichlorovos, Acephate, Omethoate, Monocrotophos, Dimethoate, Diazinon, Parathion-methyl, Malathion, Parathion, Methidathion, Ethion were 0.2, 0.2, 0.5, 0.05, 0.2, 0.2, 0.2, 0.5, 2.0, 0.5 μg·g⁻¹, respectively. **CONCLUSION** This research provides scientific basis for production of green Chinese herbs and ensures the safety in utilization of drugs.

Key words: *Angelica dahurica*; OPPs; GC; MRLs

CLC number: R917

Document code: A

Article ID: 1006-0103(2011)05-0483-04

有机磷类农药的化学结构中含有酯键,其化学性质不稳定,易受热、酸碱而降解,不易长期残留。然而有机磷类农药能与体内的乙酰胆碱酯酶(AChE)结合,生成较稳定的磷酰化胆碱酯酶,使乙酰胆碱在体内大量蓄积,引起中枢神经系统紊乱的急性中毒症状,甚至死亡。由于该类农药具有急性毒性,故中药材中有机磷类农药残留的检测非常重要^[1-2]。白芷是一种常用中药材,始载于《神农本草

经》,为伞形科植物白芷 *Angelica dahurica*(Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f. 或杭白芷 *Angelica dahurica*(Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f. var. *formosana*(Boiss.) . Shah et Yuan 的干燥根,具祛风散寒、燥湿排脓、止痛等功效^[3]。由于白芷为多年生草本植物,更易受到有机磷类农药的污染^[4],因此,现分析了不同产地的川白芷药材中有机磷类农药的残留情况,并制定了川白芷药材中有机磷类农药的最大残

基金项目: 国家科技支撑计划项目 (2007BA140B03)

作者简介: 蒲道俊 (1974—) 男, 重庆, 高级工程师, 从事药物新制剂的研究工作。Email: pudaojun@263.net

* 通信作者 (Correspondent author) ,Email: loweizao@163.com